

1 / 1 WPAT - ©Thomson Derwent

Accession Nbr :

2000-294952 [26]

Sec. Acc. CPI :

C2000-089308

Title :

Purification and crystallization of riboflavin to give more soluble form suitable for pharmaceutical or foodstuff use, by activated carbon treatment in acid solution, cross-flow filtration and precipitation

Derwent Classes :

B02 D13 E13

Patent Assignee :

(HOFF) HOFFMANN LA ROCHE & CO AG F
(HOFF) ROCHE VITAMINS INC

Inventor(s) :

WAGNER G

Nbr of Patents :

8

Nbr of Countries :

31

Patent Number :

EP-995749 A1 20000426 DW2000-26 C07D-475/14 Ger 9p *

AP: 1999EP-0120364 19991013

DSR: AL AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LT LU LV MC
MK NL PT RO SE SI

JP2000128880 A 20000509 DW2000-32 C07D-475/14 5p

AP: 1999JP-0293063 19991015

CN1251365 A 20000426 DW2000-36 C07D-475/14

AP: 1999CN-0121368 19991012

CA2282908 A1 20000419 DW2000-37 C07D-475/14 Eng

AP: 1999CA-2282908 19990920

BR9905331 A 20000815 DW2000-45 C07D-475/14

AP: 1999BR-0005331 19991018

US6150364 A 20001121 DW2001-01 C07D-475/14

AP: 1999US-0420824 19991019

BEST AVAILABLE COPY

THIS PAGE BLANK (USPTO)

KR2000029132 A 20000525 DW2001-10 C07B-063/00
AP: 1999KR-0044908 19991016

CN1117752 C 20030813 DW2005-49 C07D-475/14
AP: 1999CN-0121368 19991012

Priority Details :

1998EP-0119686 19981019

IPC s :

A61K-031/525 C07B-063/00 C07D-475/14

Abstract :

EP-995749 A

NOVELTY - Purification and crystallization of riboflavin to give more soluble form suitable for pharmaceutical or foodstuff use, by activated carbon treatment in acid solution, cross-flow filtration and precipitation.

DETAILED DESCRIPTION - Purification and crystallization of riboflavin (I) involves:

- (i) dissolving acicular (I) of stable modification A in aqueous mineral acid with thorough mixing at 30 deg. C or less;
- (ii) adding activated carbon;
- (iii) removing the carbon (plus adsorbed impurities) by cross-flow filtration via a ceramic membrane of pore size 20-200 nm;
- (iv) treating the filtrate with a 5-10 fold volume of water at 30 deg. C or less; and
- (v) recovering the precipitated spherical crystals of (I) by centrifugation or filtration.

ACTIVITY - None given.

MECHANISM OF ACTION - None given.

USE - The process is useful for converting synthetically or biotechnologically prepared (I) into a form suitable for use in pharmaceuticals or foodstuffs.

ADVANTAGE - The product has purity at least 98%. It is in the form of spherical crystals having an irregular surface (i.e. the B or C modification), having higher surface, superior physical properties (e.g. flow and dissolution properties, abrasion resistance and tableting characteristics) and increased bioavailability compared with the starting material. (Dwg.0/0)

Manual Codes :

CPI: B03-C D03-H E06-D17

Update Basic :

2000-26

Update Equivalents :

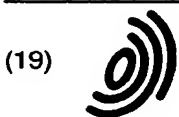
2000-32; 2000-36; 2000-37; 2000-45; 2001-01; 2001-10; 2005-49

Update Equivalents (Monthly) :

2005-08

THIS PAGE BLANK (USPTO)

D 2



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) **EP 0 995 749 A1**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
26.04.2000 Patentblatt 2000/17

(51) Int. Cl.⁷: **C07D 475/14**

(21) Anmeldenummer: 99120364.7

(22) Anmeldetag: 13.10.1999

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE**
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL LT LV MK RO SI

(30) Priorität: 19.10.1998 EP 98119686

(71) Anmelder:
**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG
4070 Basel (CH)**

(72) Erfinder: Wagner, Gerhard
79664 Wehr (DE)

(54) **Reinigungs- und Kristallisationsverfahren für Riboflavin**

(57) Ein Verfahren zur Reinigung und Kristallisation von Riboflavin besteht darin, nadelförmiges Riboflavin der stabilen Modifikation A in einer wässrigen Mineralsäurelösung bei einer etwa 30°C nicht übersteigenden Temperatur unter intensiver Durchmischung aufzulösen, zur resultierenden Lösung Aktivkohle zu geben, nach Adsorption der gelösten Verunreinigungen aus der Lösung auf der Aktivkohle das die Aktivkohle enthaltende Medium einer Querstromfiltration über eine Keramikmembran mit einer Porengrösse von etwa 20 bis etwa 200 nm zu unterwerfen, das resultierende Filtrat mit einer fünf- bis zehnfachen Menge (Vol./Vol.) Wasser bei einer etwa 30°C nicht übersteigenden Temperatur zu versetzen und die resultierenden ausgefallenen, sphärischen Kristalle von Riboflavin durch Zentrifugation oder Filtration abzutrennen. Die so enthaltenen sphärischen Kristalle von Riboflavin können gegebenenfalls mit Wasser gewaschen und anschliessend getrocknet werden. Das so gereinigte und kristallisierte Riboflavin eignet sich für Pharma- und Lebensmittelanwendungen.

EP 0 995 749 A1

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Reinigung und Kristallisation von Riboflavin für Pharma- und Lebensmittelanwendungen.

5 [0002] Das zur Zeit im Handel befindliche Riboflavin wird teilweise synthetisch und teilweise biotechnologisch hergestellt, wobei die biotechnologischen Herstellungsverfahren in der letzten Zeit eindeutig auf dem Vormarsch sind. Gerade bei fermentativer Herstellungsweise ist die nahezu vollständige Reinigung und Aufkonzentrierung des Riboflavins, wie sie für Pharma- und Lebensmittelanwendungen erforderlich ist, ausgesprochen schwierig. Für solche Anwendungen wird Riboflavin in der Regel in saurem oder alkalischem Umfeld gelöst. Zellreste, Proteine, Peptide und
10 Aminosäuren, die nach dem Lösen des Riboflavins selber je nach Substanz gelöst oder ungelöst vorliegen können, sind häufig nur mit relativ grossem Aufwand durch die Kombination mehrerer unterschiedlicher Einheitsoperationen abtrennbar. Das gelöste Riboflavin wird in der Regel durch unterschiedliche Verfahren meist oberhalb von 30°C auskristallisiert, und zwar als nadelförmige Kristalle, welche normalerweise der stabilen Modifikation A entsprechen (siehe beispielsweise die US-Patentschriften 2.324.800, 2.797.215 und 4.687.847). Ferner wird Riboflavin bisher ausschliesslich in der stabilen Kristallmodifikation A hergestellt und vertrieben. Da Riboflavin in dieser Form nur in sehr geringem Umfang wasserlöslich ist, ist das für Pharma- und für Lebensmittelanwendungen notwendige Löseverhalten relativ schlecht. Seit geraumer Zeit besteht daher der Wunsch, das Löseverhalten und damit auch die Bioverfügbarkeit von Riboflavin zu verbessern.

[0003] Verschiedene aus der Literatur bekannte Arbeiten betreffen unterschiedlich stabile Kristallmodifikationen von Riboflavin, die durch Ausfällung aus alkalischer Lösung gebildet werden; aus solchen Arbeiten ist allerdings bisher kein praktisches Betriebsverfahren entwickelt worden, was vermutlich auf den chemischen Abbau des Riboflavins in alkalischem Umfeld zurückzuführen ist (siehe beispielsweise die US-Patentschrift 2.603.633).

[0004] Das gegenwärtig vertriebene Riboflavin liegt teilweise in Form von sehr feinem Pulver, teilweise in Form von langen gelben Nadeln vor. Das feine Pulver staubt beträchtlich, weist eine ausgesprochen geringe Schüttdichte und ein schlechtes Fliessverhalten auf und lädt sich sehr leicht auf, so dass beispielsweise das Verpressen in Tabletten erschwert wird und Zusätze zur Verbesserung des Fliess- und Kompaktierverhaltens benötigt werden. Ebenso zeigen die Nadeln bei der Verarbeitung eine starke Staubentwicklung und sind problematisch bei der Weiterverarbeitung, wie beispielsweise bei der Mehlevitaminierung. Auch verschiedene bei der Kristallisation erfolgende Agglomerationsverfahren wurden bisher nicht zur grosstechnischen Herstellung von Riboflavin eingesetzt (siehe beispielsweise die kanadische Patentschrift 633.852 und die europäische Patentschrift 307.767). Weitere Agglomerationsverfahren erfolgen bei der Trocknung unter Verwendung von nadelförmigen Kristallen der Modifikation A (deutsche Offenlegungsschrift 4.014.262). Nach wie vor besteht der Wunsch, eine Form des Riboflavins herzustellen, welche wesentlich bessere physikalische Eigenschaften, wie beispielsweise Fliess- und Löseeigenschaften und Abriebsfestigkeit, besitzt und eine Reinheit (Gehalt an Riboflavin) von über 98% aufweist.

35 [0005] Ziel der vorliegenden Erfindung ist es, ausgehend von nadelförmigem Riboflavin, welches der stabilen Modifikation A entspricht und synthetisch oder biotechnologisch hergestellt worden ist, ein reineres Riboflavin mit über 98%igem Gehalt an Riboflavin herzustellen, welches deutlich bessere Löse- und Flieseigenschaften besitzt als das gegenwärtig verfügbare Material. Im allgemeinen sollte das neue Riboflavin eine bessere Bioverfügbarkeit und bessere physikalische Eigenschaften, z.B. bei der Tablettierung, aufweisen.

40 [0006] Es ist nun ein relativ einfaches Verfahren gefunden worden, welches es erlaubt, ein derartiges Riboflavin bereitzustellen. Dieses Verfahren besteht im Grunde genommen aus einer sogenannten Vorreinigung und einer Kristallisation; der Kristallisation schliesst sich eine Trocknung an.

[0007] Es handelt sich bei dem erfindungsgemässen Verfahren um ein Verfahren zur Reinigung und Kristallisation von Riboflavin, das dadurch gekennzeichnet ist, dass man nadelförmiges Riboflavin der stabilen Modifikation A in einer wässrigen Mineralsäurelösung bei einer etwa 30°C nicht übersteigenden Temperatur unter intensiver Durchmischung auflöst, zur resultierenden Lösung Aktivkohle zugibt, nach Adsorption der gelösten Verunreinigungen aus der Lösung auf der Aktivkohle das die Aktivkohle enthaltende Medium einer Querstromfiltration über eine Keramikmembran mit einer Porengrösse von etwa 20 bis etwa 200 nm unterwirft, das resultierende Filtrat mit einer fünf- bis zehnfachen Menge (Vol./Vol.) Wasser bei einer etwa 30°C nicht übersteigenden Temperatur versetzt, und die resultierenden ausgefallenen, sphärischen Kristalle von Riboflavin durch Zentrifugation oder Filtration abtrennt.

50 [0008] Nach Erhalt der Riboflavin-Kristalle auf diese Weise können die Kristalle gegebenenfalls mit Wasser gewaschen und anschliessend nach an sich bekannten Methoden getrocknet werden. Das so ergänzte Verfahren stellt einen weiteren Aspekt des oben definierten erfindungsgemässen Verfahrens dar.

[0009] Als Ausgangsmaterial des erfindungsgemässen Verfahrens wird nadelförmiges Riboflavin der Modifikation A eingesetzt, wie es beispielsweise bei der Produktion für Futtermittel anfällt. Dieses Riboflavin weist in der Regel einen Gehalt von etwa 85 bis zu etwa 98% und je nach Herstellungsweise chemische Nebenprodukte und/oder Fermentationsreste sowie Wasser auf, deren Gesamtmenge dementsprechend über 2 Gewichtsprozent beträgt.

[0010] Im ersten Verfahrensschritt wird die Ausgangsware trocken oder fitterfeucht in der wässrigen Mineralsäure-

lösung gelöst. Darauf erfolgt die Auflösung durch eine Protonierungsreaktion. Beim Lösevorgang werden Fermentationsreste, wie Proteine, Peptide und Aminosäuren, und/oder chemische Nebenprodukte frei, die dann teilweise gelöst und teilweise als Feststoff vorliegen. Als Mineralsäure eignet sich insbesondere Salzsäure oder Salpetersäure, vorzugsweise die erstere, deren Konzentration im allgemeinen etwa 10% bis etwa 65% (Gewichtsprozent) beträgt.

5 **[0011]** Im Falle der bevorzugten wässrigen Salzsäurelösung liegt die Konzentration zweckmässigerweise im Bereich von etwa 18 bis etwa 24%. In einer solchen wässrigen Salzsäurelösung werden bis zu etwa 19% trockenes Riboflavin gelöst. Die Lösung ist damit nahezu gesättigt. Im allgemeinen richtet sich die Menge Riboflavin gegenüber der Menge wässriger Mineralsäure nach der Natur der Mineralsäure, der Konzentration der Lösung und der Lösetemperatur.

10 **[0012]** Zudem erfolgt die Auflösung des nadelförmigen Riboflavins in der wässrigen Mineralsäurelösung bei Temperaturen bis zu maximal 30°C, in der Regel bei etwa 5 bis etwa 25°C, vorzugsweise bei etwa 10 bis etwa 20°C, und zwar zweckmässigerweise unter intensiver Durchmischung, beispielsweise durch intensives Rühren.

[0013] Durch die Erhöhung der Temperatur und/oder der Durchmischung kann die Lösezeit reduziert werden. Je nach Temperatur und Durchmischungsgrad dauert der vollständige Lösevorgang in der Regel bis zu etwa 30 Minuten.

15 **[0014]** Als nächster Verfahrensschritt wird zur Lösung des Riboflavins in der wässrigen Mineralsäurelösung Aktivkohle zugegeben. Demzufolge werden die gelöst vorliegenden Verunreinigungen auf der Aktivkohle adsorbiert. Diese kann pulverisiert oder granuliert sein. Zweckmässigerweise werden zur adsorptiven Reinigung der gelösten Verunreinigungen aus der Lösung etwa 0,5 bis etwa 9% (Gewichtsprozent), vorzugsweise etwa 3%, Aktivkohle bezogen auf den Riboflavingehalt zugegeben. Je nach Verunreinigung wird die Aktivkohle bis zu etwa 12 Stunden, vorzugsweise etwa 20 0,5 bis etwa 3 Stunden, in der Lösung belassen. Als Aktivkohle eignet sich sauer gewaschene Aktivkohle mit einer Schüttdichte von etwa 250 bis etwa 400 kg/m³, vorzugsweise etwa 300 kg/m³, einer spezifischen Oberfläche von etwa 1200 bis etwa 1600 m²/g, vorzugsweise etwa 1400 m²/g, und einer mittleren Partikelgrösse von etwa 20 bis etwa 70 µm. Beispiele geeigneter Aktivkohlen sind Norit® CA1 und Bentonorit® CA1, die sich besonders zur Adsorption von gelösten biologischen Verunreinigungen eignen, sowie Norit® SX2, das sich seinerseits besonders zur Abtrennung von 25 chemischen Verunreinigungen eignet.

[0015] Gewünschtenfalls kann der wässrigen Mineralsäurelösung neben Aktivkohle ein Filterhilfsmittel zugegeben werden, von dem zweckmässigerweise etwa 2 bis etwa 9 Gewichtsprozent bezogen auf den Riboflavingehalt eingesetzt werden. Als Filterhilfsmittel eignen sich beispielsweise Arbocel® BWW 40 und B 800 der Firma Rettenmaier & Söhne GmbH + Co.

30 **[0016]** Die Abtrennung der Aktivkohle, des eventuell vorhandenen Filterhilfsmittels und der ungelöst vorliegenden Fermentationsreste erfolgt mittels der anschliessenden Querstromfiltration. Es wurde überraschenderweise gefunden, dass die Aktivkohle neben der Adsorption noch eine abrasive Wirkung auf die Deckschicht zeigt, die sich auf der Membran bildet. Durch diese Wirkung ist es erst möglich, die Membran über einen längeren Zeitraum stabil mit nahezu dem doppelten Durchsatz zu betreiben, als ohne Aktivkohle. Der Aktivkohle kommen also sowohl abrasive wie auch adsorptive Eigenschaften zu. Die Querstromfiltration erfolgt über eine Keramikmembran, welche eine Porengrösse von etwa 35 20 bis etwa 200 nm, vorzugsweise etwa 50 nm, aufweist. Die im Kreislauf umgepumpte Aktivkohle bewirkt durch die Abrasion eine Reinigung der sich auf der Membran aufbauenden Deckschicht aus Kohle und Fermentationsresten. Die Querstromgeschwindigkeit über der Membran ist in der Regel relativ hoch; sie liegt zweckmässigerweise im Bereich von etwa 5 bis etwa 6 m/s. Um die Deckschicht nicht übermässig zu komprimieren, beträgt der transmembrane Druck 40 zweckmässigerweise 1 bis 2 bar (0,1 bis 0,2 MPa).

[0017] Nach der Querstromfiltration wird die von nahezu allen Verunreinigungen, der Aktivkohle sowie eventuell vorhandenem Filterhilfsmittel befreite Lösung von Riboflavin zur Kristallisation gebracht, was durch Zugabe von einer fünf- bis zehnfachen Menge Wasser erfolgt. Die damit erfolgende Deprotonierung des in der wässrigen Mineralsäurelösung vorhandenen Riboflavins führt zu dessen Ausfällung.

45 **[0018]** Die Temperatur des Mediums, in dem die Kristallisation stattfindet, kann je nach Herstellungsweise und Verunreinigungsgrad des Riboflavins in einem Bereich von 0 bis 30°C variiert werden. Insbesondere bei synthetisch hergestelltem Material kann die Temperatur bis auf 30°C erhöht werden; bei fermentativem oder relativ sauberem Material bieten sich im allgemeinen Temperaturen unter 10°C an. Vorzugsweise wird allerdings eine Temperatur zwischen 4 und 10°C eingestellt. Die Kristallisation kann batchweise oder kontinuierlich durchgeführt werden, vorzugsweise kontinuierlich. Als Kristaller können Kaskaden oder einzelne Kessel eingesetzt werden. Insbesondere bei einzelnen Kesseln empfiehlt es sich, an unterschiedlichen Stellen im Kessel einzuspeisen. Innerhalb des Kristallers muss auf jeden Fall eine sehr gute makroskopische Durchmischung eingestellt werden. Dies kann beispielsweise durch Einsatz eines zweistufigen Rührwerkes realisiert werden, wobei die Feedlösungen um 180° versetzt auf der oberen und unteren Rührebene zugespeist werden. Dabei wird zweckmässigerweise auf der oberen Ebene das Wasser, auf der unteren die 55 Mineralsäurelösung des Riboflavins zugegeben. Das Rühren soll ausgesprochen schonend erfolgen, um die Kristalle nicht zu zerstören. Die Verweilzeit beträgt geeigneterweise etwa 5 bis etwa 20 Minuten, vorzugsweise etwa 10 bis 13 Minuten. Die anschliessende Filtration erfolgt mit einem Filter oder einer Zentrifuge; vorzugsweise wird ein Bandfilter eingesetzt, auf dem auch die eventuell durchgeführte Wäsche sehr effizient ist. Die Trocknung kann auf an sich

bekannte Weise durchgeführt

[0019] Die anfangs relativ Mutterlauge von der Wäsche lauge:Wasser beträgt zweckm: 5 ler vorliegende Leitfähigkeit h

Kombination von
Fällung + Wirbel-
schichtflockung
Grundlast

ickführung der
hältnis Mutter-
die im Kristal-
200 mS/cm
alle der Rück-

⇒ Produkt eigen- fte
schaffen
um sta nicht
gleich
gleiches gilt für
EP 1048 668!

ungsverhält-
lungsgemäs-
stacheligen
Kristalle der
vorgang, wie

beispielsweise die europäische
], vielmehr wachsen bei dem neuen Verfahren aus
n Keim nadelförmige Kristalle heraus. Die so ent-
Modifikation B bzw. C, die zum einen ausreichend
und grössere Oberfläche herausragende Löseei-
e Flieseigenschaften besitzen. Durch das erfin-
er höheren Abriebfestigkeit als bei Agglomeraten

oder Zentrifugation abgetrennt. Der Filterkuchen
Filterkuchen getrocknet werden kann.
genden Beispiele veranschaulicht.

25 Beispiel 1

[0023] Als Ausgangsmaterial des nachfolgend beschriebenen Verfahrens wurde fermentativ hergestelltes Ribofla-
vin verwendet, welches einen Gehalt an Riboflavin von 97,02% (nach HPLC), eine Restfeuchtigkeit (H_2O) von 0,80%
sowie einen Gehalt an Aminosäuren von 1,11% aufwies und als nadelförmige Kristalle der stabilen Modifikation A vor-
lag.

[0024] 350,0 g dieses Ausgangsmaterials wurden in 1708,6 g 24%iger Salzsäure bei 22°C unter Rühren aufgelöst.
Nach etwa 15 - 20 Minuten Lösezeit lag eine braun-schwarze Lösung vor, die etwa 17% Riboflavin enthält.

[0025] Man gab anschliessend zur Lösung 16 g (etwa 3% der Riboflavinmenge) Aktivkohle (Norit® CA1) zu und
liess das Gemisch noch 4 Stunden nachrühren. Das Gemisch wurde in den Doppelmantelfeedtank einer Labor-Mem-
brananlage gefüllt. Der Tank wurde gekühlt, um eine Temperatur von maximal 35°C einhalten zu können. Mittels einer
Zentrifugalpumpe wurde die Lösung über eine Keramikmembran mit einer effektiven Membranfläche von 0,0055 m²
gepumpt. Der transmembrane Druck wurde auf 1,5 bar (0,15 MPa) eingeregelt, die Querstromgeschwindigkeit über die
Membran auf 6 m/s. Es ergab sich ein Permeatdurchsatz von etwa 100 l/m²/h, der bis nahezu zum Ende der Filtration
aufrecht gehalten werden konnte.

[0026] Die salzsaure Riboflavinlösung wurde dann in einem kontinuierlich betriebenen Fällungskristaller zur Aus-
fällung gebracht

[0027] Der 3 l-Fällungskristaller wurde zunächst mit etwa 2 l Wasser gefüllt und die Flüssigkeit mit einem zweistu-
figen Schrägblattrührer bei 100 UpM gerührt und anschliessend auf 10°C abgekühlt. Danach wurde gleichzeitig konti-
nuierlich 1590 g/h salzsaure Riboflavinlösung auf den oberen Rührer und etwa 9000 g/h Wasser auf den unteren
Rührer bei etwa 10°C zudosiert. Etwa 2 - 4 Minuten nach dem Start begann das Riboflavin als orange-gelbe Kristalle
auszukristallisieren. Zu Beginn sahen die gefällten Kristalle flockenartig aus, welche aber nach 20 - 30 Minuten in kör-
nige Partikel übergingen. Die Kristallsuspension wurde dann kontinuierlich abgelassen, nachdem im Kristaller die 3 l-
Marke (Doppelmantelende) erreicht worden war (d.h. nach etwa 7 Minuten). Das Ventil wurde so eingestellt, dass sich
das Niveau bei der 3 l-Marke einpendelte. Die abfliessende Suspension wurde direkt auf eine P3-Nutsche gegeben und
der Feststoff dort von der Lösung abgetrennt.

[0028] Nach jeweils 15 Minuten sammelte man etwa 2500 ml Suspension und erhielt einen Filterkuchen von etwa
1 cm Dicke. Dieser wurde dann mit 1300 ml Wasser portionenweise gewaschen, bis ein pH von etwa 5 erreicht wurde.

[0029] Das feuchte, gelbe Kristallisat (65 - 75% Restfeuchte) wurde anschliessend getrocknet.

55 Beispiel 2

[0030] Wie in Beispiel 1 beschrieben, wurde eine Riboflavin-Lösung hergestellt und mit Aktivkohle versetzt. Im
Gegensatz zu Beispiel 1 wurde die Lösung über eine Membran mit einer Porengrösse von etwa 50 nm gereinigt. Der

transmembrane Druck lag bei 1,5 bis 1,7 bar (0,15 bis 0,17 MPa), die Querstromgeschwindigkeit bei 5 bis 6 m/s. Es ergab sich ein Permeatdurchsatz von etwa 70 l/m²/h. Die Kristallisation, Filtration und Wäsche erfolgten analog Beispiel 1. Die Kristallisationstemperatur lag zwischen 9 und 10°C, und die Trocknung erfolgte in einem Labortrockenschrank bei 100°C.

Beispiel 3

[0031] Als Ausgangsmaterial wurde chemisch hergestelltes Riboflavin mit einem Gehalt von 98% eingesetzt. Das Ausgangsmaterial wurde, wie in Beispiel 1 beschrieben, gelöst. Die Querstromfiltration erfolgte wie in Beispiel 2 beschrieben. Die Kristallisation wurde bei 20°C und indem 1030 g/h salzsaure Riboflavinlösung und 15060 g/h Wasser zudosiert wurden, durchgeführt. Filtration und Wäsche erfolgten analog zu Beispiel 1. Die Trocknung wurde analog zu Beispiel 2 durchgeführt.

[0032] Die Ergebnisse der obigen drei Beispiele sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengefasst:

Tabelle

Reinheiten und Eigenschaften des jeweils getrockneten Endproduktes					
Beispiel	Modifikation (nach Röntgen-Struktur-analyse)	Riboflavin-Gehalt (nach HPLC)	Lumichrom-Gehalt (nach HPLC)	Lumiflavin-Gehalt (nach HPLC)	AminosäureGehalt
1	B	98%	0,08%	-	0,1%
2	B	98,9%	0,15%	-	0,06%
3	B	99%	0,15%	0,25%	-

[0033] Die jeweils fehlende Prozentzahl beinhaltet den Wassergehalt und sonstige geringe Verunreinigungen.

Patentansprüche

- Verfahren zur Reinigung und Kristallisation von Riboflavin, dadurch gekennzeichnet, dass man nadelförmiges Riboflavin der stabilen Modifikation A in einer wässrigen Mineralsäurelösung bei einer etwa 30°C nicht übersteigenden Temperatur unter intensiver Durchmischung auflöst, zur resultierenden Lösung Aktivkohle zugibt, nach Adsorption der gelösten Verunreinigungen aus der Lösung auf der Aktivkohle das die Aktivkohle enthaltende Medium einer Querstromfiltration über eine Keramikmembran mit einer Porengrösse von etwa 20 bis etwa 200 nm unterwirft, das resultierende Filtrat mit einer fünf- bis zehnfachen Menge (Vol. /Vol.) Wasser bei einer etwa 30°C nicht übersteigenden Temperatur versetzt, und die resultierenden ausgefallenen, sphärischen Kristalle von Riboflavin durch Zentrifugation oder Filtration abtrennt.
- Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die so erhaltenen sphärischen Kristalle von Riboflavin mit Wasser gewaschen und anschliessend getrocknet werden.
- Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Mineralsäure Salzsäure oder Salpetersäure, vorzugsweise Salzsäure, ist.
- Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Auflösung des nadelförmigen Riboflavins in der wässrigen Mineralsäurelösung bei etwa 5 bis etwa 25°C, vorzugsweise bei etwa 10 bis etwa 20°C, erfolgt.
- Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass zur Lösung des nadelförmigen Riboflavins in der wässrigen Mineralsäurelösung etwa 0,5 bis etwa 9% (Gewichtsprozent), vorzugsweise etwa 3%, Aktivkohle bezogen auf den Riboflavingehalt zugegeben werden.
- Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass als Aktivkohle sauer gewaschene Aktivkohle mit einer Schüttdichte von etwa 250 bis etwa 400 kg/m³, vorzugsweise etwa 300 kg/m³, einer spezifischen Oberfläche von etwa 1200 bis etwa 1600 m²/g, vorzugsweise etwa 1400 m²/g, und einer mittleren Partikelgrösse von etwa 20 bis etwa 70 µm verwendet wird.

EP 0 995 749 A1

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass neben Aktivkohle ein Filterhilfsmittel zugegeben wird.
- 5 8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Keramikmembran eine Porengrösse von etwa 50 nm aufweist.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Temperatur des Mediums, in dem die Kristallisation stattfindet, in einem Bereich von etwa 4 bis etwa 10°C liegt.
- 10 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren kontinuierlich durchgeführt wird, und die Verweilzeit im Kristaller bei der Kristallisation etwa 5 bis etwa 25 Minuten, vorzugsweise etwa 10 bis 13 Minuten, beträgt.
- 15 11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die resultierenden ausgefallenen, sphärischen Kristalle von Riboflavin auf einem Bandfilter gesammelt, abgetrennt und getrocknet werden.

20

25

30

35

40

45

50

55



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 99 12 0364

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IntCl.7)
D,Y	EP 0 307 767 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO. AG) 22. März 1989 (1989-03-22) * Ansprüche 1-6 *	1	C07D475/14
Y	EP 0 730 034 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG) 4. September 1996 (1996-09-04) * Seite 5, Zeile 13 - Zeile 40 *	1	
A	EP 0 464 582 A (BASF AG) 8. Januar 1992 (1992-01-08) * Anspruch 1; Beispiele 2,3 *	1	
A	EP 0 164 704 A (BASF AG) 18. Dezember 1985 (1985-12-18) * Anspruch 1; Beispiele 3,4,6B *	1	
D	& US 4 687 847 A		
A,D	DE 40 14 262 A (BASF AG) 7. November 1991 (1991-11-07) * Anspruch 3 *	1	
A,D	US 2 603 633 A (J. K. DALE) 15. Juli 1952 (1952-07-15) * Spalte 8, Zeile 17; Ansprüche I-III; Tabelle VI *	1	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IntCl.7) C07D
A,D	US 2 797 215 A (J. K. DALE) 25. Juni 1957 (1957-06-25)	1	
A,D	US 2 324 800 A (R. PASTERNAK ET AL.) 20. Juli 1943 (1943-07-20)	1	

	-/--		
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort BERLIN		Abschlußdatum der Recherche 14. Dezember 1999	Prüfer Hass, C
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			

EPO FORM 1503 03.92 (P04C03)



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 99 12 0364

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7)
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 113, no. 2, 9. Juli 1990 (1990-07-09) Columbus, Ohio, US; abstract no. 8823t, Seite 141; XP002125630	1	
A	- & PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 14, no. 7 (C-673), 10. Januar 1990 (1990-01-10) & JP 01 254222 A (KUBOTA LTD), 11. Oktober 1989 (1989-10-11) -----	1	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.7)
Recherchenort BERLIN		Abschlußdatum der Recherche 14. Dezember 1999	Prüfer Hass, C
<p>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE</p> <p>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur</p> <p>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p>			

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 99 12 0364

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

14-12-1999

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 307767 A	22-03-1989	AT 91686 T	15-08-1993
		DE 3882466 A	26-08-1993
		DE 3882466 T	11-11-1993
		DK 518688 A	19-03-1989
		JP 1102079 A	19-04-1989
		JP 2897180 B	31-05-1999
EP 730034 A	04-09-1996	CN 1146455 A	02-04-1997
		JP 8256786 A	08-10-1996
EP 464582 A	08-01-1992	DE 4021274 A	09-01-1992
		CA 2046128 A	05-01-1992
		DE 59107748 D	05-06-1996
		DK 464582 T	28-05-1996
		JP 4261176 A	17-09-1992
		JP 8002903 B	17-01-1996
		US 5210023 A	11-05-1993
EP 164704 A	18-12-1985	DE 3421714 A	12-12-1985
		DK 260285 A,B,	13-12-1985
		JP 1873473 C	26-09-1994
		JP 5086396 B	10-12-1993
		JP 61010586 A	18-01-1986
		US 4687847 A	18-08-1987
DE 4014262 A	07-11-1991	CA 2040862 A	05-11-1991
		DE 59107371 D	21-03-1996
		DK 457075 T	11-03-1996
		EP 0457075 A	21-11-1991
		JP 2536973 B	25-09-1996
		JP 4224515 A	13-08-1992
		US 5300303 A	05-04-1994
US 2603633 A	15-07-1952	KEINE	
US 2797215 A	25-06-1957	KEINE	
US 2324800 A	20-07-1943	KEINE	

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

THIS PAGE BLANK (USPTO)

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images
problems checked, please do not report the
problems to the IFW Image Problem Mailbox**

THIS PAGE BLANK (USPTO)